Keywords: Tuberculosis, reaction of specific lysis of leukocytes, sensibilization, in vivo diagnostics, index RSLL.

Литература

1. Донченко А.С. Дифференциальная диагностика туберкулиновых реакций в благополучных по туберкулезу хозяйствах: Методические рекомендации / А.С. Донченко, Н.А. Донченко, Колосов А.А. // Новосибирск, 2002.

2. Луговская С.А., Лабораторная гематология / С.А. Луговская, В.Т. Морозока, М.Е. Почтарь, В.В. Долгов // М., 2002.

3. Наставление по диагностике туберкулеза животных. Министерство с/х. Российской Федерации. Департамент ветеринарии 18.11.2002. Ветеринарный консультант, 2004. - №4,

4. Пат. 2366454 Российская Федерация, МПК А61К 39/04 (2006.01). Способ ранней диагностики туберкулеза животных / Дубовой Б.Л.; заявитель и патентообладатель Новочеркасск. ГНУ СКЗНИВИ. - №2007128465/13; заявл. 24.07.07; опубл. 27.01.09, бюл. №25

5. Профилактика инфекционных болезней 10 раздел «Туберкулез» Санитарные правила СП 3.1.093-96. Ветеринарные правила ВП 13.3.1325-96 Госкомсанэпиднадзор России, Минсельхозпрод России Москва.1996.

Контактная информации об авторах для переписки

Дубовой Борис Лаврентьевич, главный научный сотрудник лаборатории по изучению инфекционных болезней с.-х. животных и птиц ГНУ СКЗНИВИ, доктор вет. наук, профессор Служебный адрес: 346421, Ростовская обл., г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, 0, ГНУ СКЗНИВИ РАСХН. E-mail: skznivi@novoch.ru

Добрелин Вадим Иванович, ведущий научный сотрудник отдела животноводства ГНУ ДЗНИИСХ, кандидат вет. наук. Служебный адрес: 346735, Ростовская обл., Аксайский район, п. Рассвет, ул. Институтская,1, ГНУ ДЗНИИСХ РАСХН, E-mail:dzniisx@aksay.ru

УДК: 619:616.992.28.001

Шарафутдинов А.М.

(Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия)

КОНСТРУИРОВАНИЕ ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА ГРИБА CANDIDA ALBICANS И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ

Ключевые слова: кандидамикоз, гриб Candida albicans, протективный антиген, свиноматка, агглютинины.

Введение.

В последнее время в различных регионах нашей страны, занимающихся свиноводством, нередко регистрируются массовые желудочно-кишечные заболевания молодняка, большая часть которых имеет инфекционную природу.

Перевод свиноводства на промышленную основу изменил условия содержания и ухода за животными, в связи с чем возросло число заболеваний, возникающих под воздействием широко распространенных и факультативно патогенных возбудителей. При этом особую актуальность приобретает вопрос сохранения молодняка. Появляются болезни, вызываемые группой условно патогенных микроорганизмов. Часто на организм при этом действует не один возбудитель, а группа (ассоциация) микроорганизмов, которые обусловливают тяжелое течение болезни, сильно выраженный токсикоз [6].

К этой группе микроорганизмов относится и гриб Candida albicans – возбудитель кандидамикоза. Данный микроорганизм вызывает заболевание молодняка свиней как самостоятельно, так и в ассоциации с другими условно-патогенными микроорганизмами [6; 7].

Исследования, проведенные зарубеж-

ными и отечественными учеными, свидетельствуют о том, что в инфекционной патологии свиней важную роль играют виды грибов рода Candida – C.albicans и C.tropicalis. Возбудитель кандидамикоза вызывает заболевание и падеж молодняка свиней как первых дней жизни, так и отъемного периода.

Иммунобиологическая перестройка организма при кандидамикозе животных не изучена. Тем не менее ее существование в процессе искусственного заражения и иммунизации животных доказано многими исследователями [1; 2; 3; 4; 5; 8; 9; 10]. Однако, сведений о вакцинотерапии и вакцинопрофилактике кандидамикоза свиней в доступной нам литературе найти не удалось.

Все вышеуказанное свидетельствует о том, что большую актуальность приобретают вопросы разработки эффективных методов лечения и профилактики кандидамикоза свиней.

Цель исследования: сконструировать и испытатъ на свиньях разных возрастных групп протективный антиген гриба Candida albicans при различных методах его введения и с учетом полученных результатов усовершенствовать меры профилактики данной болезни.

Методика исследования.

Работа выполнялась в период с 1998 по 2000 гг. на кафедре терапии, клинической диагностики и болезней молодняка сельскохозяйственных животных Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, Ульяновской областной ветеринарной лаборатории, а также в производственных условиях – в свиноводческих хозяйствах Ульяновской области.

При конструировании протективного антигена против кандидамикоза учитывали общие принципы, положенные в основу разработки метода изготовления биопрепаратов против бактериальных и вирусных инфекций [121].

Для разработки данного препарата был отобран высокоиммуногенный штамм C.albicans (ВКПГУ-401/NCTC-885-653. Биотип «1». Серотип «А»), принадлежащий Лаборатории Морфологии и биологии грибов при Российском Микологическом Центре Санкт-Петербургской Академии последипломного образования.

Приготовление протективного антигена из биомассы культуры C.albicans производилась по следующей технологии:

Культуру C.albicans (ВКПГУ-401/NCTC-885-653) выращивали на агаре Сабуро в чашках Петри при температуре 32-34 С в течение двух суток, биомассу снимали с питательной среды стерильным 0,15-молярным раствором NaCl, фильтровали через два слоя марли, центрифугировали при 2500-3000 об/мин в течение 20 минут. Осадок клеток ресуспензировали в 0,15 М растворе NaCl до концентрации 1,5х108 клеток в 1 мл. Густоту взвеси контролировали при помощи оптического стандарта мутности ГКИ им. Тарасевича. К антигену добавляли формалин до 0,5%-ной конечной концентрации формальдегида и выдерживали при температуре 36-37^{0}С в термостате в течение двух суток. После контроля на стерильность при постоянном помешивании добавляли стерильный 0, 15-молярный раствор NaCl (около 70 объемных процентов) и адсорбировали на стерильном геле гидрата окиси алюминия (около 20 объемных процентов). Затем выдерживали приготовленный антиген в термостате в течение 10 дней при температуре 37^{0}С при частом помешивании для лучшего распределения адьюванта по поверхности антигена. По истечении 10 дней протективный антиген при расфасовке во флаконы проверяли на стерильность путем посева в 2 пробирки с МПБ, 2 пробирки с бульоном Сабуро и 2 чашки Петри с агаром Сабуро. Пересев из первичного посева осуществлялся через 10 суток на те же среды. Учитывали результаты посевов (вторичных) спустя 7 суток.

При проведении исследований основной акцент делался на изучение динамики поствакцинальных реакций в организме свиней. Для проведения данного опыта были взяты свиноматки 20-дневной супоросности, принадлежащие свинотоварной ферме 4 отделения Учебно-опытного хозяйства Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии и свинофермы МП «Заветы Ильича» АОЗТ «Стройпластмасс» Ульяновского района Ульяновской области. Животные в каждом из хозяйств были разделены на 3 группы по 10 голов в каждой.

Первую группу супоросных свиноматок вакцинировали внутримышечно, в область заушной ямки, двукратно, с интервалом 14 дней. Доза препарата для свиней – 5 см^3 для первой и второй инъекции.

Вторую группу супоросных свиноматок вакцинировали аэрозольно. Вакцину диспергировали генераторами аэрозолей ДАГ-2. Для вакцинации свиней использовали сконструированный протективный антиген против кандидамикоза свиней, разведенный 0,15-молярным раствором NaCl. Для приготовления 1000 мл рабочего раз-

График 1

Динамика поствакцинальных реакций организма свиноматок, иммунизированных внутримышечным методом, двукратно, с интервалом в 14 дней, в дозе 5 см^3 (в течение всего периода исследования).

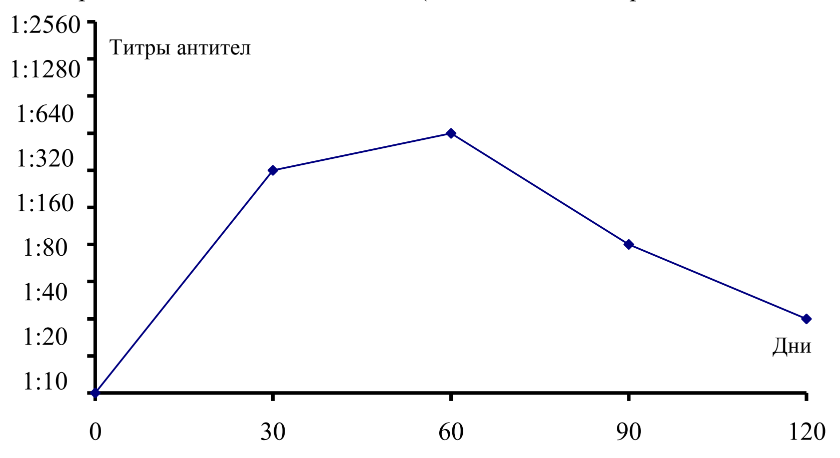
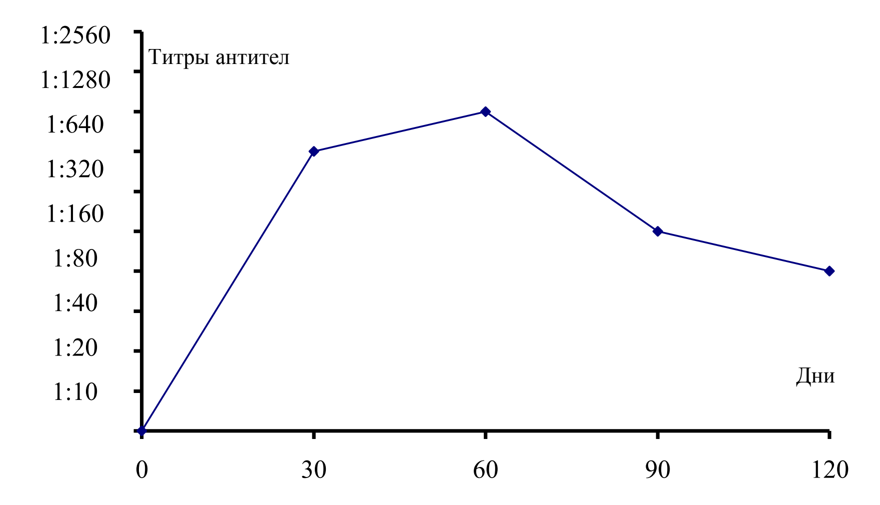


График 2.

Динамика поствакцинальных реакций организма свиноматок, иммунизированных аэрозольным методом, двукратно, с интервалом в 14 дней, в дозе 5мл/м^3



ведения использовали флакон с антигеном объемом 200 мл, 700 мл 0,15 М-ного раствора NaCl и 100 мл глицерина в качестве стабилизатора. Установки ДАГ-2 устанавливали на площади 26 м^2 или на 30 м^3 объема станка, на высоте 1,2 м от пола. Антиген диспергировали из расчета 5 мл/м^3 (7,5 млн. гр. т./м^3), двукратно, с интервалом 14 дней. Экспозиция вакцинации составляла 45 минут, включая период распыления препарата.

Третья группа была контрольной и иммунизации не подвергалась.

У животных до опыта были взяты пробы крови для серологического исследования путем постановки реакции агглютинации. В период опыта пробы крови у вакцинированных животных брали через 30, 60, 90 и 120 дней после второй иммунизации, в количестве 5-10 мл.

После опороса иммунизированных и не иммунизированных свиноматок определя-

Таблица1.

Результаты испытания протективного антигена против кандидамикоза свиней на супоросных свиноматках (СТФ Учебно-опытного хозяйства Ульяновской ГСХА).

Название биопрепарата	Количество опоросившихся свиноматок, гол.	Получено поросят, гол.		Сохранность поросят к 10-дневному возрасту, гол.		
		всего	на1свиноматку	всего	%сохранности	на1свиноматку
Протективный антиген гриба C.albicans						
1 опытная группа	10	104	10,4	98	94	9,8
2 опытная группа	10	105	10,5	100	95	10,0
Контрольная группа (без антигена)	10	104	10,4	85	82	8,5
Разность			+ 0 и 0,1		+1 и 13	+0,2 и 1,5

Таблица 2.

Результаты испытания протективного антигена против кандидамикоза свиней на супоросных свиноматках СТФ МП “Заветы Ильича” АОЗТ «Стройпластмасс» Ульяновского района Ульяновской области

Название биопрепарата	Количество опоросившихся свиноматок, гол.	Получено поросят		Сохранность поросят к 10-дневному возрасту		
		всего, гол.	на1свиноматку,гол	всего	% сохранности	на1свиноматку, гол.
Протективный антиген гриба C.albicans						
1 опытная группа	10	113	11,3	105	93	10,5
2 опытная группа	10	110	11,0	106	96	10,6
Контрольная груп-па (без вакцины)	10	110	11,0	95	86	9,5
Разность			+0 и 0,3		+3 и 10	+0,1 и 1,1

лась сохранность поросят к 10-дневному возрасту.

С этой целью в каждом из хозяйств было сформировано 3 группы поросят по 10 голов в каждой.

Поросят первой группы вакцинировали внутримышечным, а поросят второй опытной группы аэрозольным методами. Техника проведения вакцинации животных была аналогична технике проведения вакцинации супоросных свиноматок с разницей лишь в дозировке антигена: доза при внутримышечной иммунизации была 1,5 см^3 (22,5 млн. гр. т.) на голову для первой и второй инъекций, при аэрозольной иммунизации, соответственно, 1,5 мл/м^3 (2,25 млн. гр.т./м^3). Внутримышечно антиген вводился животным в область внутренней поверхности бедра.

Контрольная группа поросят вакцина-

ции не подвергалась.

Заключительным этапом наших исследований было изучение результатов производственного испытания протективного антигена против кандидамикоза свиней. При этом определялась сохранность поросят к 10-дневному возрасту и к отъему.

При проведении исследований было использовано: поросят 5-10-дневного возраста – 30 голов, поросят 20-дневного возраста – 60 голов, поросят 1-1,5-месячного возраста – 10 голов, поросят 2-месячного возраста – 130 голов, супоросных свиноматок – 60 голов.

Данные изучения динамики поствакцинальных реакций организма свиноматок, иммунизированных внутримышечным и аэрозольным методами представлены в виде графиков 1 и 2.

Анализируя данные, представленные в графиках 2 и 3, следует отметить тот факт, что специфических агглютининов в сыворотке крови животных до иммунизации реакции агглютинации обнаружить не удалось.

Через 30 дней после второй иммунизации супоросных свиноматок специфические агглютинины в сыворотке крови улавливаются в титрах 1:320 при внутримышечном и 1:640 при аэрозольном методах вакцинации (оценочный индекс по Сергиеву: 64 и 128, соответственно).

Спустя 60 дней после второй иммунизации титры достигают максимальных величин (соответственно 1:640(оценочный индекс по Сергиеву – 128) и 1:1280 (оценочный индекс по Сергиеву – 256)). В дальнейшем происходит постепенное снижение уровня антител. Так, на 90 сутки после второй иммунизации внутримышечным методом этот показатель составил соответственно 1:80 (оценочный индекс по Сергиеву – 16), аэрозольным – 1:160 (оценочный индекс по Сергиеву – 32).

На 120 сутки титр агглютининов не превышал 1:20 и 1:80 (оценочный индекс по Сергиеву 4 и 16, соответственно).

Таким образом, высокие титры агглютининов в сыворотке крови вакцинированных свиноматок сохраняется не более 60 суток.

Данные по испытанию протективного антигена гриба C.albicans против кандидамикоза свиней в производственных условиях на супоросных свиноматках и поросятах 20-дневного возраста представлены в таблице 1.

Из данных, приведенных в таблицах 1 и 2, видно, что при применении протективного антигена против кандидамикоза свиней сохранность поросят повышается к 10-дневному возрасту на 3,0-13,0%, то есть соответственно количество поросят увеличивается к 10-дневному возрасту на 10-15 голов (x^2 = 8,2-9,0, p<0,001).

Резюме: В статье представлены технология получения протективного антигена гриба Candida albicans и результаты его производственных испытаний на свиньях разных возрастных групп. Показано, что при введении протективного антигена в сыворотке крови иммунизированных животных обнаруживаются специфические агглютинины, наиболее высокие титры которых отмечается после второй иммунизации, особенно при аэрозольном методе вакцинации. Сохранность молодняка свиней, полученного от иммунизированных свиноматок, обработанных данным препаратом, существенно повышается.

SUMMARY

The article deals with the technology of protective antigen fungus Candida albicans obtaining. This antigen has been tested on pigs of different age groups and the results are given in the article. The author demonstrates that during the protective antigen injection specific agglutinins are found out in the blood serum of immunized animals. The highest titres are marked after the second immunization, especially during the aerosol vaccination method. The safety of young pigs born to immunized sows treated with the given preparation raises increasingly.

Keywords: candidamycos, fungi Candida albicans, a protective antigene, a sow, agglutinins.

Литература

1. Агольцов В.А. Получение противокандидозной вакцины и изучение её иммуногенных и биохимических свойств./ В.А. Агольцов/ Вестник СГАУ имени Н.И.Вавилова.-2005.-№ 1.-с.3-5.

2. Бидненко С.И., Дыховичная Д.Е. Биохимическая и иммунологическая характеристика антигенов, полученных при ультразвуковой дезинтеграции штаммов Candida albicans различной вирулентности. // Журн. микробиол., 1975, № 2. – С.121-122.

3. Быков, В.Л. Морфогенез кандидоза слизистых оболочек при введении иммунодепрессантов / В. Л. Быков, Е. Н. Пахомова // ЖМЭИ.-1998.-№1.-С. 28-31.

4. Никифоров Ю.Н., Караев З.О., Дроздов А.И., Яробкова Н.Д., Беспалова С.М. Антиген для выявления кандидозной сенсибилизации. // Вопросы микологии, вып. XIV, Горький, 1978. – С.117-121.

5. Пономаренко В.А. Иммунохимическая и иммунобиологическая характеристика некоторых

экстрактов, выделенных из клеток Candida albicans. – Автореф. дис. … канд. биол. наук. – Л., 1972, – 210 с.

6. Себряков Е.В. Структурно-функциональная характеристика грибов рода Candida и патогенетические особенности кандидамикоза сельскохозяйственных животных. Дисс. … докт. вет. наук. – Персиановка, 1991. – С.14-42.

7. Себряков А.Е., Ерошенко А.В., Афанасьев А.И. Микологическая диагностика кандидоза поросят. // Инфекц. и инвазионные заболевания с.-х. животных и птиц. – Персиановка, 1993 (1994). – С.40-43.

8. Черных Н.Б. Иммунопрофилактика болезней животных. – М.: Колос, 1981. – 415 с.

9. Hurd R.D. a Drake C.H. Candide albicans. Infections in actively and passivelly immunised animals. // Mycopathologia. – 1953, V.6, № 4. – P.290.

10. Mazzetti G., Marraccini C., Fissi G. Primi tentativi sperimentali di immunizzazione con Candida albicans [First attempted experimental immunization with Candida albicans] / J. Lo Sperimentale (Firenze) – 1956. – 106(2)/ – Mar. – Apr. 56. – P.177-181.

Контактная информации об авторах для переписки
Шарафутдинов Азат Минсеитович, кандидат биологических наук, доцент
e-mail: sharafutdinov75@bk.ru

УДК 619:616.98:578.842.1:616-036.22(470)

Саркисян Х.В.
(“Научный центр оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов” ГНКО, Министерство Сельского Хозяйства, Республика Армения, МСХ РА)

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ ПОЛЕВОГО ИЗОЛЯТА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ “ШИКАОХ-2009”

Ключевые слова: АЧС, диагностика, изолят, вирулентность

Введение

Африканская чума свиней (АЧС) является одной из наиболее значимых и серьезных болезней домашних и диких свиней, характеризующаяся высокой контагиозностью и летальностью, сверхострым, острым, подострым и хроническим течением(1,2,3). При сверхострой форме обычно первым признаком болезни является внезапная гибель животных. В большинстве случаев при естественных вспышках АЧС, клинические признаки сходны с таковыми при острой форме классической чумы свиней (4,6,).

Инкубационный период, при этом, длится от двух до семи, а иногда до 15 дней. Отмечается лихорадка постоянного типа (41-42оС) в течение 3-5 дней, угнетение, слабость, шаткость походки, понос с примесью крови. В начале болезни возникает эритема, а перед гибелью – цианоз кожи ушных раковин, подгрудка, живота, пятачка и конечностей. Наблюдается учащение дыхания, дрожь, истечения из носа. Отказ от корма регистрируют за 1-2 дня до гибели. При остром и подостром течении животные обычно гибнут через 2-14 суток после появления первых клинических признаков (4).

При вскрытии трупов свиней, павших от АЧС, обычно отмечают выраженный геморрагический диатез в различных органах, мраморность лимфатических узлов, инфаркт селезенки, кровоизлияния в почках на фоне их анемии, а также катарально-геморрагический гастроэнтерит. Слизистая оболочка желудка и кишечника может быть гиперемирована, усеяна петехиями, которые, прежде всего, появляются в прямой кишке.

Вирус АЧС выделяют из патологического материала больных животных на культуре клеток свинного происхождения (6,7). Идентификацию вируса АЧС, как правило, проводят при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР), реакции иммуннофлюоресценции и методом иммуноферментного анализа (ELIZA) /1,5/.

В последние годы отмечено смещение неблагополучия АЧС по видовым группам в сторону увеличения числа вспышек заболевания среди диких кабанов.

С учетом возможности формирования природных очагов заболевания, изу-